ORSAY
Série A,
N° d'ordre :
144

THÈSES

présentées

UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

pour obtenir

le titre de DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

par

Alain, Henri CORSIN

1ère THÈSE : "ÉTUDE DU MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE DU MYOCARDE AU COURS D'UN SURMENAGE MÉCANIQUE RÉCENT".

2ème THÈSE : Propositions données

Soutenues le 5 MARS 1973 *devant la Commission d'examen*

MM. CORABŒUF, Président
VOLFIN, HATT } Examinateurs

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS 6e
1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543902_0013

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

ORSAY
Série A,
N° d'ordre :
144

THÈSES

présentées

UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

pour obtenir
le titre de DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

par

Alain, Henri CORSIN

1ère THÈSE : "ÉTUDE DU MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE DU MYOCARDE AU COURS D'UN SURMENAGE MÈCANIQUE RÉCENT".

2ème THÈSE : Propositions données

Soutenues le 5 MARS 1973 *devant la Commission d'examen*

MM. CORABŒUF, Président
VOLFIN, HATT } Examinateurs

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS 6e
1973

ETUDE DU METABOLISME ENERGETIQUE DU MYOCARDE

AU COURS D'UN SURMENAGE MECANIQUE RECENT

INTRODUCTION

L'adaptation du coeur à l'exercice et aux surmenages mécaniques est un thème de recherches important pour plusieurs raisons : - En pathologie humaine les surmenages mécaniques cardiaques représentent une des principales causes de l'insuffisance cardiaque. - En physiologie, une des fonctions importantes du coeur est son adaptation à tous moments aux exigences de la circulation, elles-mêmes soumises aux exigences tissulaires, éminemment variables. - En pharmacologie, la connaissance des moyens utilisés par l'organisme pour adapter la machine contractile à des travaux différents devrait pouvoir servir de base à des modèles thérapeutiques rationnels ... etc.

Divers types de surmenage mécanique peuvent s'imposer au coeur. Selon qu'il exige une augmentation de la force d'éjection ou du volume éjecté, on parle de surcharge barométrique ou de surcharge volumétrique. De toutes façons toute surcharge impose une augmentation du travail fourni, et, partant de l'énergie disponible.

Cette énergie, fabriquée à l'intérieur de la cellule à partir des substrats et de l'oxygène transportés par la circulation coronaire s'adapte-t-elle à la demande ? Si oui, comment ? Sinon est-ce par suite d'une insuffisance d'apport d'oxygène (hypoxie), d'oxygène et de substrats (ischémie) ou par suite d'un goulot d'étranglement situé dans une des étapes du métabolisme intermédiaire ?

Aucune de ces questions n'est encore tout à fait élucidée. D'où le choix de ce sujet de travail.

Les diverses possibilités envisagées à l'instant nous obligent, dans un premier temps, à faire un bref rappel de nos connaissances concernant :

1) le métabolisme cardiaque normal ;

2) les conséquences métaboliques des surmenages cardiaques ;

3) les conséquences métaboliques de l'hypoxie (nous verrons qu'un des points encore litigieux est de savoir si, dans ses effets, le surmenage mécanique s'accompagne ou non d'un état de type hypoxique).

I - LE METABOLISME ENERGETIQUE DU MYOCARDE

Le coeur fournit en permanence une quantité importante de travail nécessaire à l'éjection du sang L'énergie qui engendre ce travail intense est fournie par un métabolisme particulièrement adapté.

Particularités du métabolisme énergétique du myocarde

L'histologie du muscle cardiaque révèle une densité élevée de capillaires ce qui présume une grande affinité des cellules pour l'oxygène et les substrats sanguins. En effet les fibres contractiles sont de type "rouge", c'est-à-dire qu'elles sont associées à beaucoup de myoglobine, pigment rouge qui capte l'oxygène provenant du sang.

Une autre particularité histochimique est la richesse du myocarde en oxydases et en enzymes du cycle de Krebs. Ce profil enzymatique témoigne en faveur d'un catabolisme aérobie très supérieur à celui de la glycolyse anaérobie. La moindre importance de cette voie est d'ailleurs renforcée par une teneur plus faible que celle du muscle blanc en grains de glycogène, et par un développement modeste du réticulum sarcoplasmique, reconnu comme le support de nombreux enzymes de la glycolyse.

Ces observations prouvent l'importance dans le myocarde du catabolisme aérobie dont le rendement énergétique est élevé. D'une manière générale les anabolismes (synthèse du glycogène, synthèse des triglycérides (T.G.) et synthèse des protéines) sont peu actifs, le coeur étant destiné à battre.

Selon le schéma d'Olson (39 a) ce métabolisme se divise en trois phases . la libération, la conservation et l'utilisation de l'énergie.

Libération de l'énergie : elle s'effectue dans le myocarde surtout à partir des acides gras non estérifiés (AGNE) (BALLARD, 3 et SHIPP, 50 b), dont le pouvoir énergétique est élevé. Le glucose, le pyruvate, le lactate et d'une manière beaucoup moins importante les corps cétoniques et les acides aminés, sont aussi capables de fournir de l'énergie. Ces substrats proviennent de la circulation sanguine et leur extraction dépend de leur gradient extra intra cellulaire. Lorsque les conditions métaboliques le permettent le coeur est capable de stocker les AGNE et le glucose sous forme de T.G. et de glycogène.

Les AGNE sont transportés à l'intérieur des mitochondries par la carnitine. Ils y sont déshydrogénés et leurs chaînes de carbone découpées par les réactions enzymatiques de la Beta-oxydation. L'énergie libérée au cours des réactions de déshydrogénation est en partie transposée sous forme d'électrons sur la Flavine Adénine Dinucléotide (FAD) et la Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD) ; tandis que les atomes de carbone, deux par deux, sont transformés en groupes acétyl combinés au coenzyme A.

Dès sa pénétration dans le cytoplasme le glucose est transformé en Glucose 6 Phosphate (G6P). Ce sont l'adénosine Triphosphate (ATP) et l'Hexokinase (HK) qui interviennent comme agent de phosphorylation. A un deuxième niveau le Fructose 6 Phosphate (F6P) est transformé en Fructose 1,6 Diphosphate(FDP) en présence d'ATP et de la Phospho-Fructo Kinase (PFK). Cette enzyme est particulièrement importante car son activation par l'Adénosine Mono Phosphate (AMP) et le Phosphore inorganique (Pi) et son inhibition par l'ATP règle le flux glycolytique. Ensuite le FDP est scindé en deux trioses phosphate isomères : le Dihydroxy-acétone

Phosphate (DHAP) et le Glycéraldéhyde Phosphate (GAP). D'une part le DHAP est réduit par le Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit ($NADH_2$) et transformé en alpha-Glycérol 1 Phosphate (GIP) en présence d'alpha-Glycérol 1 Phosphate Déshydrogénase (G1PDH). L' G1P est un des deux produits terminaux de la glycolyse anaérobie et comme le lactate il s'accumule au cours de l'hypoxie. Le GAP d'autre part est transformé en pyruvate par des réactions d'oxydo réduction couplées à des réactions de phosphorylation qui produisent de l'ATP. Une particularité de la glycolyse cardiaque est de ne pas être équipée en enzymes capables de synthétiser du glucose à partir du pyruvate. De plus l'isoenzyme H de la Lacticodéshydrogénase (LDH) est la forme prédominante dans le coeur, ce qui explique l'importance de la réaction lactate-pyruvate. Seule l'absence d'oxygène transforme le pyruvate en lactate.

En aérobiose le pyruvate est oxydé dans les mitochondries en transférant les électrons de réactions de déshydrogénation sur le NAD et le FAD. Un atome de carbone est éliminé sous forme de gaz carbonique tandis que les deux autres sont transformés en groupes acétyl combinés au co-enzyme A.

La beta-oxydation et la glycolyse aérobie aboutissent donc à l'acétyl coenzyme A clé du cycle de Krebs. Dans la suite des réactions d'oxydo réduction enzymatiques de ce cycle, le NAD et le FAD vont encore jouer leur rôle d'accepteur d'électrons pour recueillir partiellement l'énergie libérée, alors que le carbone sera définitivement éliminé sous forme de gaz carbonique.

En résumé l'énergie chimique des AGNE et du glucose, libérée par la beta-oxydation, la glycolyse aérobie et le cycle de Krebs, est transposée sur le NAD et le FAD.

Conservation de l'énergie : elle va s'effectuer principalement le long de la chaîne respiratoire. Le passage des électrons du $NADH_2$ et du $FADH_2$ à travers les cytochromes jusqu'à l'oxygène est une suite de réactions d'oxydo-réduction dont trois cites possèdent une variation d'énergie libre importante. Ces trois cites sont couplés à la phosphorylation de l'Adénosine Di Phosphate (ADP) qui se transforme en ATP, dont l'énergie d'hydrolyse est élevée. L'ATP en se combinant à la créatine donne naissance à la Créatine Phosphate (CP), dont l'énergie d'hydrolyse est encore plus grande. De ce fait cette réaction commandée par la Créatine Kinase (CPK) est aisément réversible et aide à maintenir le taux d'ATP constant.

Utilisation de l'énergie : c'est par l'intermédiaire de l'ATP que la cellule cardiaque alimente son activité. En particulier le système actine-myosine du sarcomère est capable d'utiliser l'énergie chimique de l'ATP et de la transformer partiellement en travail mécanique. Au cours de la contraction l'hydrolyse enzymatique de l'ATP donne naissance à de l'ADP, de l'AMP et du Pi.

Les études du contrôle respiratoire ont montré que le taux mitochondrial, donc le taux cellulaire de l'ATP et de l'ADP sont étroitement liés à l'état dynamique des transporteurs d'électrons. En l'absence d'ADP et de Pi, mais en présence d'oxygène, la respiration des mitochondries isolées est très basse, l'état des transporteurs est très réduit. Dès que l'on ajoute ces deux corps, la consommation d'oxygène augmente et les transporteurs s'oxydent. L'ADP agit comme un activateur de la chaîne respiratoire, et réciproquement il est démontré que l'ATP l'inhibe.

Donc les concentrations en ATP et en ADP de la cellule, et plus précisément le rapport ATP/ADP + Pi, reflètent le potentiel de phosphorylation de la chaîne respiratoire. Leurs variations se répercutent de proche en proche dans le cycle de Krebs,

la beta-oxydation et la glycolyse. Le taux de $NADH_2$ et de NAD, donc leur rapport, varient et peuvent donner une indication du potentiel redox de la cellule. De plus, des enzymes allostériques comme la PFK, clé de la glycolyse, ou l'isocitrique déshydrogénase (ICDH) qui règlent la vitesse du cycle de Krebs, sont inhibées par l'ATP, et activées l'une par l'AMP l'autre par l'ADP. Le métabolisme énergétique du myocarde est donc un système enzymatique d'autorégulation, où la vitesse de fabrication en énergie est adaptée aux besoins de la cellule.

II - CONSEQUENCES METABOLIQUES DU SURMENAGE CARDIAQUE

CHALLONER a démontré par ses travaux sur le coeur isolé qu'environ 95 % de l'ATP fabriqué étaient destinés à la contraction. Il n'est pas surprenant qu'un surcroît de travail accélère son métabolisme énergétique (OLSON, 39 a). Extérieurement cela se concrétise par une augmentation de la consommation d'oxygène (ROLETT, 46). C'est donc qu'une modification de l'état stationnaire est intervenue au niveau de la chaîne respiratoire. Le rapport ATP/ADP + Pi diminue , l'ADP et le Pi tendent à être le plus rapidement possible rephosphorylés en ATP. Cette augmentation des produits de l'hydrolyse de l'ATP stimule l'oxydation phosphorylante. Par l'intermédiaire de la PFK la glycolyse se trouve activée sans augmentation importante du taux de ses intermédiaires (OPIE, 40 b). NEELY (38 b) signale une augmentation de la pénétration du glucose dans la cellule cardiaque. CRASS (12 c) démontre à l'aide du même modèle de coeur isolé travaillant, l'élévation de la consommation et de l'oxydation de ce substrat d'une part, et d'autre part l'intensification de l'oxydation de l'acide palmitique marqué. Le système enzymatique capable de produire de l'énergie en s'accélérant essaye de subvenir aux besoins plus importants de la cellule. Au cours d'un surmenage cardiaque mineur l'adaptation semble possible, tandis que si le surmenage est sé-

vère, il n'en paraît pas être de même.

C'est ainsi que WOLLENBERGER (55 a) FURCHGOTT (23 a) et LEE (33) n'ont constaté aucune modification des concentrations d'ATP et de CP du myocarde de différents modèles de surmenage, et un rendement normal de la phosphorylation des mitochondries isolées. Tandis que LAMPRECHT (32), SZEKERES et SCHEIN (53), GREINER (24), FEINSTEIN (17) et PROCITA (42) trouvent un abaissement des taux d'ATP et de CP et une diminution du rapport P/O des mitochondries isolées (SCHWARTZ et LEE, 48). Ces dernières expériences paraissent correspondre à un défaut de production en énergie. D'ailleurs des altérations structurales des mitochondries sont signalées par WOLLENBERGER (55 c).

La fabrication de l'ATP, bien que massivement absorbée par le travail mécanique de la cellule, est aussi destinée à assurer le travail chimique de la biosynthèse. Quel que soit le surmenage cardiaque, on constate une activation très rapide de la synthèse protéique et des acides nucléiques (HATT, 26 a, SCHREIBER, 47). Une période dite d'adaptation active (MEERSON, 35 a) se poursuit pendant plusieurs jours à plusieurs semaines. Le nombre des mitochondries augmente (HATT, 26 b). Il paraît vraisemblable que cette multiplication corresponde à un besoin accru en énergie, et que pendant le délai nécessaire à cette multiplication il peut exister une balance temporairement déficitaire entre l'énergie disponible et le travail fourni.

Plus tardivement apparaît une augmentation de la proportion des protéines contractiles (FIZELOVA, 20). Ceci peut être interprété comme un effort pour augmenter le nombre des sarcomères (HATT, 26 b, BISHOP, 5) qui faciliterait le travail. Pourtant ce but ne semble pas atteint, puisqu'il est admis que le myocarde hypertrophié est hypocontractile. En effet la masse des myofibrilles et celle des capillaires n'augmentent pas parallèlement au cours de l'hypertrophie (RAKUSAN, 43). De plus la distance mo-

yenne entre deux capillaires s'accroît. Ces deux modifications pourraient compromettre l'approvisionnement en oxygène de la cellule et expliquer un déficit en énergie.

III - CONSEQUENCES METABOLIQUES DE L'HYPOXIE

Lorsque la cellule cardiaque est privée d'oxygène, la première perturbation biochimique se produit au niveau de l'oxydation du cytochrome a. L'équilibre dynamique de la chaîne respiratoire est rompu. L'oxydation phosphorylante source principale en ATP est bloquée. Sa concentration en ATP baisse graduellement aux dépens de celle de la CP, qui chute rapidement (FEINSTEIN, 17). L'ADP, l'AMP et le Pi augmentent (JOBSIS, 28), le rapport ATP/ADP + Pi diminue.

A l'autre extrémité de la chaîne respiratoire le $NADH_2$ et le $FADH_2$ s'accumulent aussi, arrêtant le cycle de Krebs. Le rapport $NADH_2$/NAD augmente. La beta-oxydation des AGNE est sans doute considérablement ralentie. EVANS (15) a montré qu'au cours de l'hypoxie du coeur isolé de rat, l'oxydation de l'acide palmitique marqué était diminuée, et son incorporation sous forme de T.G. augmentée. Par ailleurs la stimulation de la glycolyse et l'augmentation de l' α G1P correspondent pour EATON (14) à une activation de la synthèse des lipides neutres.

Cette stimulation de la glycolyse qui a pour but de fournir de l'ATP anaérobie, se signale par une consommation et une phosphorylation accrues du glucose (MORGAN, 37 a), une baisse du taux de glycogène (KLARWEIN, 29) et une activation de la PFK par l'ADP, l'AMP et le Pi (REGAN, 44, LEMLEY, 34). Le pyruvate dont les possibilités d'oxydation par l'intermédiaire du cycle de Krebs sont diminuées est transformé en lactate (KRASNOW, 29). La

modification du rapport de ces deux substrats donne une idée du potentiel redox du cytoplasme.

Ce profil du métabolisme énergétique au cours de l'hypoxie est le reflet d'une situation extrême. Il paraît problématique de retrouver une situation aussi caractéristique dans le coeur forcé par surmenage mécanique. Ces indications permettent cependant de définir le sens général des déviations métaboliques induites par une anaérobiose relative.

Mais l'hypoxie ainsi définie n'est pas le seul mécanisme envisageable pour expliquer le déficit énergétique temporaire des surmenages mécaniques du myocarde. L'apport d'oxygène aux cellules pourrait être suffisant, et le trouble métabolique pourrait siéger au niveau des mitochondries dont le nombre et l'activité seraient temporairement incapables de répondre aux besoins.

Ces deux possibilités, concernant la nature d'un déficit en énergie au cours du surmenage mécanique du myocarde, nous ont incités à reprendre une étude du métabolisme énergétique sur un modèle déjà examiné du point de vue morphologique dans ce laboratoire. Il s'agit de l'insuffisance aortique expérimentale du lapin, sacrifié au 8e jour. Ce délai est choisi pour permettre à l'animal de surmonter les effets de l'anesthésie et de l'opération. De plus il paraît probable que l'adaptation au nouvel effort ne soit qu'à son début.

C'est en mesurant les concentrations du muscle cardiaque en lipides totaux, glycérides, acides gras non estérifiés (AGNE) et Phospholipides (P.L.) d'une part ; et en nucléotides à adénine (ATP, ADP, AMP), CP, Pi, et en substrats de la glycolyse (glycogène, G6P, F6P, FDP, DHAP, 3 GLP, pyruvate, Lactate) d'autre part, que nous avons essayé de répondre en partie à ces deux questions.

MATERIEL ET METHODES

A - Les lipides

Des lapins adultes, de 2 à 3 kgs, nourris soit d'avoine, d'herbe ou de granulés d'aliments composés, sont utilisés pour cette première série d'expériences.

Après anesthésie (25 mg/kg mébubarbital intraveineux), une insuffisance aortique est obtenue par lésions à thorax fermé d'une ou deux, parfois trois, valvules sigmoïdes. Cette lésion est effectuée à l'aide d'un cathéter légèrement biseauté, relié à une tête manométrique Telco, type RA 8, pour comparer les pressions différentielles.

Huit jours après l'intervention, dans la mesure où le choix est possible, les lapins présentant des signes de dyspnée sont préférés. Ils sont sacrifiés en leur injectant par voie intraveineuse (veine marginale de l'oreille) 1 g de penthotal dilué dans 5 ml d'eau distillée (HATT, 26 b).

L'épicarde du lapin étant riche en tissu adipeux, il ne peut être procédé à une congélation à la pince. Rapidement le coeur est excisé et immergé dans du sérum physiologique à 0 + 4°C. En engageant dans l'aorte une canule raccordée à une seringue, les coronaires sont rincées avec la même solution, jusqu'à disparition du sang.

Le septum est découpé, essuyé, plongé dans un mortier contenant de l'azote liquide et broyé.

Toutes ces opérations se déroulent dans un minimum de temps.

Chaque fois, la recherche des signes anatomiques d'insuffisance cardiaque est effectuée : l'ascite, le liquide pleural, l'état des poumons, ainsi que l'examen des sigmoïdes.

Extraction

Une première pesée de poudre congelée sert à déterminer sa teneur en eau en maintenant l'échantillon à 105°C jusqu'à poids constant.

Ensuite 1 gramme de cette même poudre est pesé dans un tube de Potter taré, dans lequel est versé aussitôt 10 ml de chloroforme éthanol (2/1). L'extraction se fait à l'aide d'un mandrin de teflon, suivant la méthode de FOLCH (21), jusqu'à l'obtention d'un résidu sec qui est pesé et représente les lipides totaux.

Puis le résidu lipidique est entièrement redissous dans 5 ml d'éther di isopropylique.

Dosages

Trois parties aliquotes vont servir respectivement au dosage des glycérides, des acides gras non estérifiés et des phospholipides.

1 - Les glycérides sont dosés en utilisant la méthode des établissements Boehringer. Après évaporation du solvant, le résidu lipidique est hydrolysé par la potasse alcoolique 0.5 N à une température comprise entre 50 et 60°C.

Ensuite une neutralisation est effectuée à l'aide de SO_4 Mg 0,15 M, suivie d'une centrifugation.

Le glycérol libéré est dosé enzymatiquement selon la méthode de KREUTZ.

Les résultats sont exprimés en µ M de glycérol par gramme de tissu sec. Le glycérol représente les glycérides dont les triglycérides constituent la principale fraction.

2 - Les acides gras non estérifiés sont séparés préalablement des phospholipides par de l'acide silicique (ANTONIS, 2).

Leur dosage est effectué à l'aide d'une microburette contenant de la soude N/200, de bleu de Nil et d'un barbotage d'azote (DOLE, 13).

Les résultats sont exprimés en µ équivalents par gramme de tissu sec.

3 - Pour les phospholipides c'est la méthode de FISKE et SUBARROW (18) qui est employée. Après minéralisation de l'extrait lipidique sec par l'acide perchlorique à 70 %, suit le dosage colorimétrique du phosphore.

Les résultats sont exprimés en micro atomes de phosphore par gramme de tissu sec.

Les méthodes employées pour le dosage des glycérides, et des AGNE ont été testées. Au moment de l'extraction des lipides totaux par le chloroforme méthanol, des quantités connues de trioléine et d'acide palmitique ont été ajoutées. 98 % du triglycéride ajouté a été retrouvé et seulement 88 % d'acide palmitique.

B - Les composés riches en énergie et les intermédiaires de la glycolyse

L'insuffisance aortique est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment. Les lapins nourris ad libitum sont sacrifiés 8 jours après l'opération. Le même critère de choix de ces lapins est utilisé pour cette seconde série.

L'anesthésie est provoquée par une injection intraveineuse (veine marginale de l'oreille) de mébubarbital à raison de 25 mg/kg.

L'animal est ensuite trachéotomisé pour permettre une ventilation à l'aide d'un respirateur Bird Mark 8. Cet appareil alimenté en air atmosphérique est réglé en ventilation contrôlée, et assure ainsi une saturation du sang artériel voisine de 95 %.

Puis un cathéter dans la carotide droite est mis en place, il servira juste avant la congélation à prélever un échantillon de sang. Il est relié à une tête manométrique Telco type RA 8, pour mesurer la pression artérielle différentielle.

Une thoracotomie antérieure est pratiquée pour mettre à jour le coeur.

A ce moment un prélèvement de sang artériel est effectué dans une seringue héparinée maintenue à 37°C. La pression partielle en oxygène du sang artériel (PaO_2), la pression partielle en gaz carbonique du sang artériel ($PaCO_2$) et le pH sont mesurés sur cet échantillon dans le quart d'heure qui suit, au moyen d'électrodes E 5046, E 5036, E 5021 et d'un pH-Mètre Radiometer 27 équipé pour la mesure de ces trois paramètres.

Congélation

Aussitôt le prélèvement fait, une première personne maintient le coeur verticalement avec des pinces à griffes, tandis qu'une seconde aplatit les deux ventricules entre les blocs en aluminium d'une pince refroidie à l'azote liquide (WOLLENBERGER, 55 b). Le médiastin est séparé du bloc congelé qui est immédiatement plongé dans un récipient contenant de l'azote liquide. Cette suite d'opérations ne demande que quelques secondes.

Un examen anatomique comme dans la première série est effectué.

Pesée

La galette congelée est soigneusement débarrassée du tissu qui a été rejeté en dehors des pinces, broyée dans un mortier contenant de l'azote liquide.

Une première pesée de poudre congelée sert à déterminer la teneur en eau comme pour les lipides.

Une seconde pesée de 1,2 g environ est transvasée dans un tube à centrifuger de 10 ml taré, maintenu à 0 + 4°C, contenant 5 ml d'acide perchlorique 0,6 N. La poudre est ajoutée par petites quantités avec une spatule refroidie à l'azote liquide, et aussitôt dispersée en agitant le tube.

Une dernière pesée de 200 à 300 mg de poudre congelée est effectuée dans un tube à centrifuger de 10 ml, taré, sortant du bain de glace, et contenant 2 ml de solution aqueuse de potasse à 30 %.

Extraction

1 - Le tube d'acide perchlorique est laissé dans le bain de glace pendant 15 minutes en agitant de temps à autre.

Il est ensuite placé dans une centrifugeuse Jouan (vitesse maximum = 2 200 tours/minute, g = 1 000) pendant 10 minutes.

A partir de ce surnageant :

- 250 µ l sont dilués à 5,75 ml d'eau distillée à 0 - 4°C (Pi),

- 4 ml sont transvasés dans un bécher de 10 ml entouré de glace et placé sur un agitateur magnétique. 5 µ l d'une solution aqueuse de rouge de méthyle à 0,1 % sont ajoutés, puis une quantité suffisante de solution de potasse 5 N et 0,5 N pour atteindre une coloration rouge orangé qui correspond à un pH de 5, 8 - 6,0 .

Après 10 minutes de repos pour laisser déposer le perchlorate de potassium, le surnageant est transvasé dans un tube à centrifuger froid et placé dans la même centrifugeuse pendant 10 minutes.

Ce nouveau surnageant est destiné àu dosage des intermédiaires de la glycolyse et aux composés riches en énergie.

2 - Le second tube est traité parallèlement suivant la technique de GOOD (25) pour extraire le glycogène et l'hydrolyser en glucose.

Dosages

Les réactifs destinés aux méthodes enzymatiques ont été standardisés. Les réactions où interviennent le $NADH_2$ et le NADP se déroulent dans un tampon triéthanol amine 500 µ M, éthylène diamine tétra acétate, sel disodique (EDTA, Na_2H_2) 50 µ M à pH 7,6. La concentration finale dans la cuve devient respectivement 100 µ M et 10 µ M, sauf pour l'ATP et le CP où elle est de 50 µ M et 5 µ M.

Le tampon utilisé pour le dosage du lactate et l' α G1P est préparé à partir d'une solution stock d'un mélange de glycine 2,5 M, de sulfate d'hydrazine 1 M et d'EDTA 13,4 m M. Cette solution est diluée extemporanément à raison de 10 ml complétés à 25 ml avec de l'eau distillée après avoir ajusté le pH à 9,5.

Les solutions de $NADH_2$ 15 mM, NAD 50 mM, NADP 15 mM, ATP 52,5 mM, 3 Phospho-glycérate (3PG) 100 mM, glutathion réduit (GSH) 50 mM sont toutes préparées au moment de l'emploi pour chaque série de dosages.

Des dosages étalon ont été effectués pour tous les substrats, sauf pour le G6P, le DHAP et le glycogène. Aucun n'était inférieur à 95 % de récupération.

L'ordre dans lequel sont décrites les méthodes correspond au déroulement chronologique des dosages.

1 - Les composés riches en énergie et le Phosphore inorganique

Le surnageant perchlorique dilué au 1/6e est utilisé pour doser le Pi et la CP selon la méthode de FURCHGOTT (23 b). Le réactif de Fiske et Subarrow est solubilisé au moment de son emploi.

Le surnageant neutralisé est utilisé pour doser enzymatiquement à l'aide d'un photomètre Eppendorf les substrats suivants :

- l'ATP et la CP, technique de FAVAZ (16), longueur d'onde 366 nm, cuves de 2 cm de parcours optique, prise d'essai 50 à 100 µ l, volume final dans la cuve 2 000 µ l. Un dosage à blanc n'est pas nécessaire.

- l'ADP et l'AMP, technique de ADAM (1), longueur d'onde 366 nm, cuves 2 cm de parcours optique, prise d'essai 250 µ l, volume final dans la cuve : 1 200 µ l. Le blanc n'est pas nécessaire car nous utilisons du $NADH_2$ pour fluorimétrie, ét étant donné les concentrations en ATP des extraits tissulaires, il n'en

est pas ajouté comme réactif.

2 - Les intermédiaires de la glycolyse

Toujours à partir du même surnageant, les substrats suivants ont été dosés :

- le pyruvate, technique de BUCHER (9 a), longueur d'onde 334 nm, cuves de 2 cm de parcours optique, prise d'essai 500 µ l, volume final 1 200 µ l. Le blanc n'est pas nécessaire.

- Le DHAP et le Fl, 6 DP, technique de BUCHER (9 b), longueur d'onde 334 nm, cuves de 2 cm de parcours optique, prise d'essai 1 000 µ l, volume final 1 200 µ l. Le blanc n'est pas nécessaire.

- Le G6P et le F6P, technique de HOHORST (27 a), longueur d'onde 334 nm, cuves de 2 cm de parcours optique, prise d'essai 1 000 µ l, volume final 1 200 µ l. Le blanc n'est pas nécessaire.

- L' α G1P, technique de HOHORST (27 b), longueur d'onde 334 nm, cuves de 2 cm de parcours optique, prise d'essai 500 µ l, volume final 1 200 µ l. Il a été tenu compte du dosage à blanc.

- Le lactate, technique de HOHORST (27 c), longueur d'onde 334 ou 366 nm, cuves de 2 cm de parcours optique, prise d'essai 100 µ l, volume final 1 200 µ l. Un blanc est nécessaire.

En raison de la très faible concentration de certains substrats, les mesures d'absorption sont effectuées à 334 nm en cuve de 2 cm de parcours optique, et en limitant le volume final des solutions dans la cuve à 1200 µ l.

3 - Le glucose du glycogène

La solution d'hydrolyse neutralisée est complétée à 20 ml avec de l'eau distillée et centrifugée. Le surnageant (100 à 400 µ l) sert à doser enzymatiquement le glucose suivant la technique de SLEIN (51). Le tampon est le même que celui utilisé pour les réactions à $NADH_2$. La concentration en triéthanol amine dans la cuve est de 50 mM et pour l'EDTA de 5 mM. Longueur d'onde 366 nm, cuves de 2 cm de parcours optique, volume final dans la cuve 2 000 µ l. Le blanc n'est pas nécessaire.

Les résultats de tous ces dosages sont exprimés en µ M/g tissu sec, seul le glycogène est exprimé en µ M d'équivalents glucose et le phosphore inorganique en µ atomes de phosphore.

La précision de la mesure directe des densités optiques sur l'échelle du photomètre Eppendorf ne permet pas une interprétation certaine des concentrations passé la deuxième décimale.

L'analyse statistique a été conduite avec les tests habituels, en considérant comme non significative (N.S.) les valeurs de p supérieures à 0.05 (SCHWARTZ, 49).

RESULTATS

A.- Les lipides (tableaux 1 et 2)

Cette série comprend 8 témoins et 8 insuffisants aortiques. Un seul parmi les insuffisants montre des difficultés respiratoires. On trouve une lame d'ascite chez 3 autres d'entre eux, tandis que l'examen des poumons révèle chez un seul un état congestif. Le nombre des trous constatés dans les sigmoïdes est en général de deux. La pression différentielle moyenne contrôlée au moment de la lésion des sigmoïdes est augmentée de 68 %.

En ce qui concerne la concentration des lipides totaux (- 4 %), des glycérides (- 22 %) et des acides gras non estérifiés (- 37 %), elle se trouve abaissée par rapport aux témoins, mais seule la baisse des glycérides est significative ($p < 0,05$). Le taux des phospholipides est légèrement augmenté (+ 4 %) (tableaux 1 et 2). Le taux des glycérides est à la limite de la corrélation positive avec la pression différentielle ($r = + 0,67$, $p < 0,10$).

B - Les composés riches en énergie et les intermédiaires de la glycolyse (fig.I)

Cette deuxième série d'expériences comprend 9 témoins et 7 insuffisants aortiques. La dyspnée est remarquée chez 3 de ces derniers dont une assez intense. L'ascite légère chez 3 animaux dont 2 avec des difficultés respiratoires, l'état congestif des poumons chez 4 animaux dont 3 avec dyspnée. Le plus essoufflé était en oedème aigu du poumon. Le nombre de trous dans les sigmoïdes est en général de 2.

L'équilibre acido basique des lapins insuffisants aortiques, sous anesthésie et ventilation contrôlée, par rapport aux témoins est déplacé. La baisse du pH est le reflet de l'augmentation de la Pa CO_2, et de la baisse de la Pa O_2. La saturation qui est déterminée à partir de ces trois paramètres est légèrement abaissée. La pression différentielle moyenne est augmentée de 88 % (tableaux 3 et 4).

En étudiant les tableaux 5 et 6, on remarque la baisse (- 28 %) significative $p < 0,01$ de la concentration en CP et la stabilité de celle de l'ATP. En ce qui concerne celles des composés résultant de l'hydrolyse de l'ATP, on s'aperçoit que l'ADP est légèrement augmenté (+ 16 %) non significativement, que l'AMP est augmenté (+ 44 %) non significativement et le Pi inchangé. Le rapport ATP/ADP + Pi est inchangé.

Qu'observe-t-on de part et d'autre des trois cites clé de la glycolyse ? (Tableaux 7 et 8). En amont de la PFK un taux inchangé du G6P, une légère augmentation (+ 15 %) non significative de celui du F6P ; en aval, une forte augmentation (+ 31 %) non significative du FDP, ce qui se traduit par une élévation (+ 26 %) non significative du rapport FDP/F6P.

Au niveau de l' α glycérol 1 Phosphate Déshydrogénase, un taux de DHAP augmenté (+ 71 %) significativement $p < 0,001$, tandis que celui de l' α G1P est inchangé, ce qui se traduit par un rapport α G1P/DHAP diminué (- 55 %) non significativement.

Au niveau de la lactico-déshydrogénase (LDH) une légère hausse du taux de pyruvate (+ 8 %) non significative et une forte augmentation (+ 36 %) non significative du lactate, ce qui entraîne une élévation (+ 12 %) non significative du rapport lactate/pyruvate.

Le taux moyen du glycogène, dont les fluctuations énormes seront discutées plus loin, est inchangé.

Il n'existe pas de corrélation positive entre le taux de FDP et celui de l'ADP, de l'AMP et du Pi.

-:-

DISCUSSION

Malgré la promptitude de la synthèse protéique à fabriquer des mitochondries, une courte période semble exister, au cours de laquelle l'énergie requise par le surcroît de travail du myocarde pourrait être insuffisante. Le but de ce travail est de mettre en évidence les réponses du métabolisme énergétique à ce surmenage.

A.- Les lipides

Huit jours après le début de l'augmentation du travail cardiaque, les examens anatomo-cliniques permettent de penser que ces animaux n'étaient pas en insuffisance cardiaque grave, mais que pour certains d'entre eux au moins, il existait un état de "coeur forcé" à minima.

Pour les concentrations en lipides du septum, l'attention est attirée par un abaissement important des glycérides et celui plus discret des lipides totaux. Cette situation rappelle les expériences de CRASS (12 a) où il met en évidence la diminution de la concentration des triglycérides du coeur isolé de rat, perfusé sans substrat, dont la pression intraventriculaire gauche est augmentée. Il n'était pas parvenu à une réduction semblable, lorsque le perfusat contenait du glucose et de l'acide palmitique à des taux physiologiques (CRASS, 12 b). Par contre CARLSON (11), lorsqu'il soumettait des rats à un effort prolongé signalait une baisse. Il nous semble donc permis d'interpréter nos résultats comme une conséquence de l'accroissement du travail ; ils écartent la possibilité d'une hypoxie, qui elle au contraire, s'accompagne d'une accumulation des triglycérides. Les "gouttelettes lipidiques" mises en évidence au microscope électronique, dans

certaines cellules myocardiques au cours des stades précoces de l'insuffisance aortique du lapin, ne confirment pas cette conclusion (HATT, 26 b). Il est vraisemblable que cette contradiction est due au fait que la lipidose intracellulaire ne touchait qu'un contingent réduit de cellules, (sans doute du fait des foyers locaux d'hypoxie vraie) et qu'elle n'est pas significative d'un processus d'ensemble.

Le taux des AGNE est lui aussi abaissé sérieusement, mais malheureusement leur dispersion ne permet pas d'en tirer des conclusions. Cette dispersion semble due à des difficultés de dosage. Souvent la zone de virage du colorant n'était pas franche et rapide. Le barbottage d'azote était pourtant effectué avec toutes les précautions recommandées par l'auteur, ainsi qu'un lavage soigneux de la verrerie utilisée.

Les conditions de prélèvement sont peut être aussi incriminables. Pour les raisons évoquées dans le paragraphe concernant les méthodes, il était impossible de procéder à une congélation à la pince. De plus, si elle avait été réalisable les acides gras plasmatiques auraient été un obstacle à l'estimation de leur concentration intracellulaire. Donc dans les conditions choisies il paraît probable que l'arrêt du métabolisme n'était pas instantané. Les valeurs des concentrations enregistrées sont comprises cependant entre celles trouvées par OLSON (39 c) et KRAUPP (31). Le premier signale un taux de 2,5 µ équivalents/g de tissu sec dans le coeur isolé de rat perfusé 10 min. selon LANGENDORF, tandis que le second en congelant <u>in situ</u> sous ventilation, parle de 10,3 µ équivalents/g frais, soit environ 41 µ équivalents/g de tissu sec.

L'absence d'une valeur significative de p n'écarte pas cependant la possibilité d'une baisse réelle des AGNE dans le myocarde surmené. En effet, RINETTI (44) avait été en mesure de prouver qu'un travail allant jusqu'à l'épuisement, imposé à des rats,

entraînait un abaissement significatif dans le coeur du taux des acides gras. Il est donc permis de penser à une oxydation plus intense de ceux-ci, ce qui est compatible avec l'abaissement du taux de glycérides.

En dosant les phospholipides nous pensions mettre en évidence la multiplication des mitochondries, dont les membranes sont riches en phospholipides. Les résultats obtenus indiquent une très légère augmentation, les travaux de RINETTI (45) montrent une élévation à peine significative. Cette absence d'augmentation du taux des PL pourrait contredire les observations faites au microscope électronique (HATT, 26 b). Mais BISHOP (5) a bien montré que si les mitochondries prolifèrent en nombre, leur volume global reste inchangé car elles diminuent de taille. Il n'est donc pas étonnant que la concentration en PL reste inchangée.

B.- Les composés riches en énergie et la glycolyse

Les résultats des examens anatomo-cliniques de cette deuxième série de lapins insuffisants aortiques, ne révèlent pas de grande insuffisance cardiaque bien que la pression différentielle aortique soit augmentée de 80 %. Toutefois l'attention est attirée par un léger déplacement de l'équilibre acido-basique qui confirme les difficultés respiratoires.

1 - Les composés riches en énergie

L'abaissement du taux de CP n'est pas surprenant lorsqu'on parcourt la littérature concernant différentes surcharges mécaniques du myocarde. POOL (41 b) le constate dans l'hypertrophie du ventricule droit provoquée par une sténose de l'artère pulmonaire du chat. BOERTH (7) le distingue lui aussi dans une préparation isovolumique du coeur de chien. MORAVEC (36) dans ce laboratoire, remarque cette différence, pour le coeur isolé isovolumique de

lapin, perfusé selon LANGENDORF. Les expériences d'insuffisance aortique de FIZEL (19) sur le lapin, au terme d'une période identique à la nôtre, font aussi apparaître une baisse. OPIE (40 b) l'a signalé également dans ses travaux concernant le coeur isolé de rat, dont le travail est accru en augmentant la pression de perfusion de l'aorte ou de l'oreillette gauche.

Cette chute de la CP peut-elle être considérée comme un test d'hypoxie ou comme une conséquence de l'augmentation du travail cardiaque ? On observe dans les travaux de FIZELOVA (20), qu'une telle chute se retrouve au moment où la synthèse protéique n'a pas encore adapté complètement les structures productrices d'énergie. En effet l'auteur situe au 30e jour l'augmentation maximum de la proportion des protéines mitochondriales, qui de plus est accompagnée d'une nette remontée du taux de CP (FIZEL, 19). C'est un argument en faveur d'une insuffisance énergétique partielle et temporaire, mais isolément sans valeur puisque l'on retrouve une diminution de la CP au cours des expériences d'hypoxie de POOL (41 a).

L'ATP quant à lui ne varie pas. Ceci est en accord avec les auteurs précédents qui l'ont mesuré in vivo. Dans les préparations de coeur isolé l'ATP est souvent abaissé. Ceci peut correspondre aux ressources limitées en oxygène que représente une solution tampon saturée par ce gaz, mais dépourvue de transporteur d'oxygène. De toute manière, la défaillance cardiaque n'intervient au cours de l'anoxie qu'au moment où la teneur en CP est presque nulle alors que celle en ATP est encore environ de 65 % de sa valeur en normoxie (BORREDON, 8). Donc la stabilité du taux de l'ATP peut seulement être interprétée comme une absence de déficit grave en énergie.

Les composés résultant de l'hydrolyse de l'ATP, indiquent par l'intermédiaire du rapport ATP/ADP + Pi un état respiratoire

mitochondrial très voisin de celui des témoins. La faible augmentation de la teneur en ADP n'a rien de comparable avec celle que l'on retrouve au cours de l'hypoxie (LEMLEY, 34). Par contre l'importante élévation du taux de l'AMP, bien que non significative, fait penser au rôle qu'il joue dans la stimulation de la PFK.

La conclusion de ce bilan des composés riches en énergie et du Pi est que, le surmenage mécaniquedu coeur au 8e jour d'une insuffisance aortique engendre une utilisation plus intense des formes de réserve en énergie. La capacité de production de cette énergie serait à sa limite, ce qui est en accord avec la croissance mitochondriale et les signes anatomocliniques d'insuffisance cardiaque.

2 - La glycolyse

Toute une série de travaux récents tend à démontrer que l'augmentation du travail cardiaque active la glycolyse.

Les préparations de coeur isolé travaillant, mis au point par MORGAN et NEELY (37 b), leur ont permis de mettre en évidence la relation qui existe entre l'augmentation du travail cardiaque, et l'élévation de la consommation d'oxygène et celle du transport du glucose (NEELY, 38 a et b).

Puis CRASS (12 c) sur le même modèle a signalé que le travail accru de ces coeurs isolés élevait la consommation du glucose et son oxydation. SWYNGHEDAUW (52), dans ce laboratoire a démontré au cours d'une stimulation hypercalcique du coeur isolé isovolumique, une augmentation des taux des hexoses et des trioses phosphates, et une corrélation positive entre l'ADP, l'AMP et le FDP, prouvant une stimulation de la PFK.

OPIE (40 b), à l'aide de préparations de coeur isolé dans lesquelles il fait varier l'activité contractile en augmentant la pression de perfusion de l'aorte ou de l'oreillette, signale des observations identiques.

In vivo l'hypertrophie du coeur de lapin, provoquée par une sténose de l'aorte engendre deux à trois jours après, une élévation de la concentration en lactate et pyruvate, et une baisse de celle du glycogène (MEERSON, 35 b).

Dans des expériences identiques aux nôtres, FIZEL (19) constate lui aussi au 7e jour, pour les mêmes substrats, des variations identiques à celles de MEERSON.

En ce qui concerne nos résultats, seul le taux de DHAP change significativement. Néanmoins il paraît possible, avec les réserves que cela impose, d'interpréter les valeurs des autres intermédiaires de la façon suivante :

- l'augmentation du rapport FDP/F6P peut indiquer une stimulation de la PFK cependant sans corrélation avec l'augmentation du taux d'AMP.

- le rapport lactate/pyruvate est lui aussi augmenté, et donne l'impression que l'oxydation aérobie du pyruvate est ralentie. L'aspect de ces deux cites est celui que l'on retrouve au cours de l'hypoxie.

- le rapport α GIP/DHAP est abaissé et du point de vue du potentiel redox cytoplasmique cela paraît contradictoire en le comparant avec celui du lactate/pyruvate. Il semble possible d'expliquer l'élévation du taux du DHAP sans changement de celui de l' α G1P de la manière suivante : ce dernier substrat, dont le métabolisme est en relation avec celui des AGNE, est un précur-

seur de la synthèse des triglycérides (EATON, 14 ; BODEL, 6 ; FRITZ, 22). Lorsque la β oxydation est bloquée au cours de l'anoxie la concentration en α GlP augmente dans de fortes proportions (WILLIAMSON, 54 ; KRAUPP, 31) par suite d'une activation de la glycolyse anaérobie. Or, l'abaissement du taux des glycérides du myocarde surmené de nos lapins suggère une oxydation plus intense des AGNE, et écarte la nécessité d'une production accrue d' α GlP bien que la glycolyse semble activée comme le témoigne l'augmentation du taux de lactate.

Dans la limite de la valeur de ces interprétations il ne semble pas s'agir d'une hypoxie vraie mais d'une anomalie métabolique encore à définir.

Le rôle du glycogène durant cette période de surcharge du coeur n'a pu être précisé. La très grande dispersion des chiffres ($9 < C° < 173$ µM/g tissu sec) , en dépit des soins apportés au dosage, ne s'explique que par la sensibilité des lapins au "stress", et dans une moindre mesure aux conditions alimentaires. La moyenne des concentrations est inchangée, mais n'autorise pas une interprétation restrictive.

En résumé, le profil de la glycolyse de ces myocardes surmenés ne paraît pas caractéristique d'une hypoxie, mais semble correspondre à une production légèrement accrue en ATP grâce à l'anaérobiose. L'apport principal d'énergie étant fourni par l'oxydation plus intense des AGNE, substrat préféré du coeur (BING, 4) qui inhibe la glycolyse (CRASS, 12 b).

CONCLUSION

Ces recherches se situent dans le cadre des investigations consacrées à l'adaptation du métabolisme énergétique du myocarde soumis à un accroissement de travail. Nous enregistrons une baisse du taux des glycérides, une baisse du taux de la CP et une augmentation de celui du DHAP. Ces résultats concordent avec ceux relevés dans la littérature sur le coeur isolé et in vivo. Il s'agirait donc d'une augmentation de l'oxydation des lipides, limitant celle du glucose, et une utilisation plus intense des composés riches en énergie, dont la production semble proche de son maximum. Ce n'est pas un état hypoxique, puisque le taux des glycérides est abaissé et la glycolyse peu stimulée, mais peut être une insuffisance mitochondriale partielle et temporaire. Le caractère momentané du déficit énergétique est d'ailleurs frappant, quand on rapproche l'évolution de la teneur des composés riches en énergie à celle des protéines mitochondriales (FIZELOVA et FIZEL, 19, 20). Ces composés énergétiques, après une baisse temporaire, remontent progressivement à des taux normaux au fur et à mesure de la prolifération des mitochondries.

Fig.1 - Répartition des variations de concentrations des intermédiaires de la glycolyse, des nucléotides à adénine et du phosphore inorganique du myocarde des lapins au 8e jour d'une insuffisance aortique.

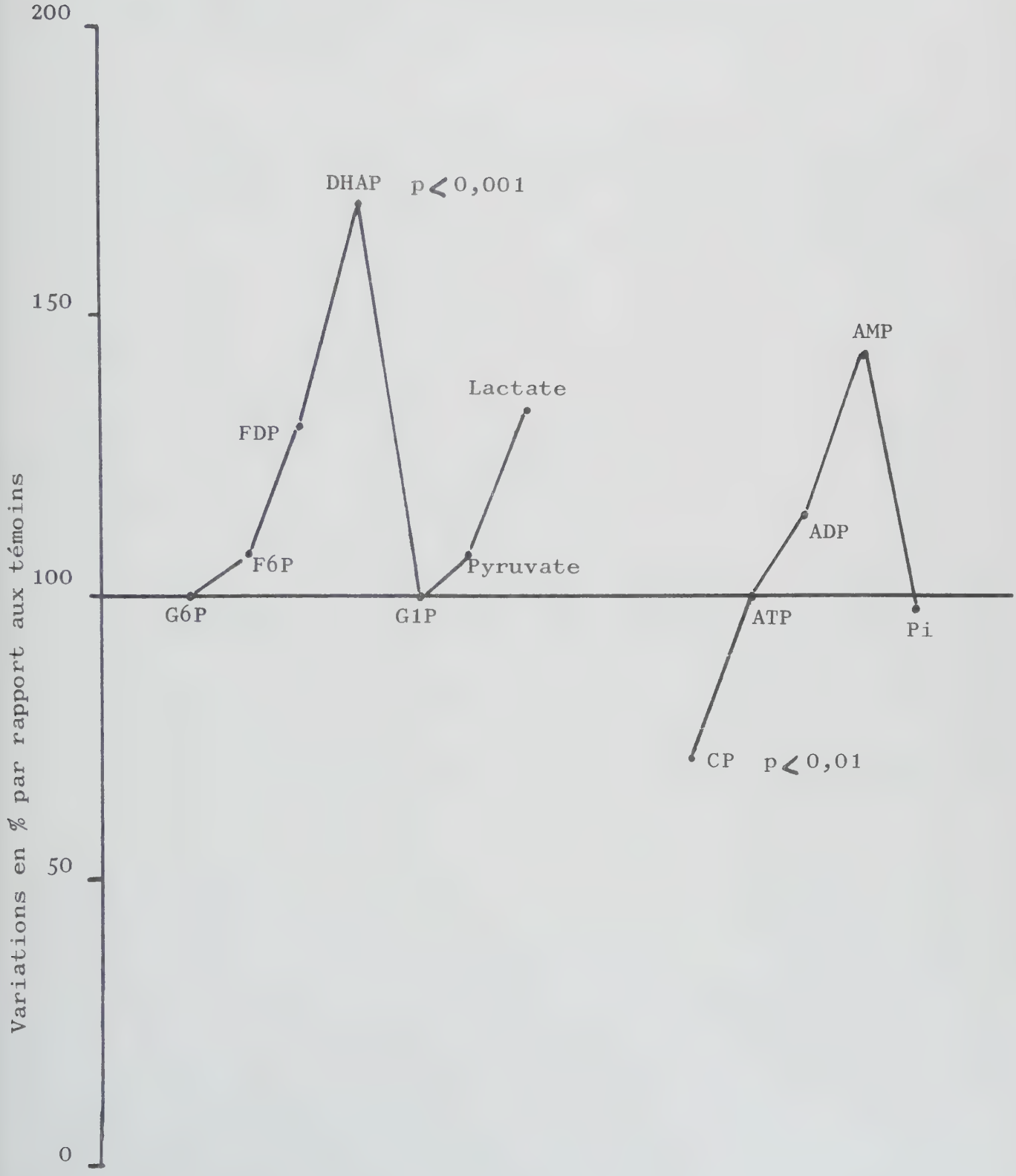


TABLEAU I

Concentration en lipides du septum de lapins témoins, 8 jours après l'opération à blanc

N° des animaux témoins	Lipides totaux mg/g tissu sec	Glycérides µM/g	AGNE µ eq/g tissu sec	Phospholipides µ Atomes/g tissu sec
17	159	46	17	124
19	194	47	62	124
1149 bis	173	57	9	132
24	198	50	22	124
25	194	57	43	150
26	178	35	43	138
27	204	42	X	143
1166 bis	203	24	52	137
Moyenne	187	44	35	134
Erreur type	± 5,6	± 3,9	± 7,4	± 3,4

TABLEAU II

Concentration en lipides du septum de lapins au 8e jour d'une insuffisance aortique

N° des animaux I.A.	Lipides totaux mg/g tissu sec	Glycérides µM/g tissu sec	AGNE µeq/g tissu sec	Phospholipides µ Atomes/g .t.sec
1116	162	37	26	134
1149	164	33	13	140
1152	204	42	29	158
1155	185	38	21	139
1157	163	36	16	138
1161	172	29	22	136
1165	191	28	X	146
1166	173	33	29	120
Moyenne	176	34 *	22	138
Erreur type	± 5,3	± 1,6	± 2,3	± 3,7

* : $p < 0.05$

TABLEAU III

L'équilibre acido-basique, la saturation en oxygène du sang artériel, la teneur en eau du myocarde congelé, la pression artérielle différentielle de lapins témoins 8 jours après l'opération à blanc

N° animaux témoins	pH	PaO_2 m/m Hg	$PaCO_2$ m/m Hg	HbO_2 %	eau %	P.différentielle m/m Hg
1174 bis	7,66	88	23	98,2	79,5	X
1167 bis	7,66	94	17	98,4	79,3	20
1124 bis	7,50	70	32	94,7	77,3	30
1227 bis	7,58	85	24	97,4	79,2	20
1229 bis	7,56	93	20	97,8	76,1	30
1233 bis	7,56	61	27	91,5	74,4	20
1234 bis	7,48	89	32	97,0	78,1	30
1235 bis	7,59	88	26	97,7	79,1	20
1239 bis	X	X	X	98,0	79,6	30
Moyenne	7,57	83	25	96,7	78,0	25
Erreur type	±0,02	± 4,1	± 1,8	± 0,7	±0,6	± 1,8

TABLEAU IV

L'équilibre acido-basique, la saturation en oxygène du sang artériel, la teneur en eau du myocarde congelé, la pression artérielle différentielle de lapins au 8e jour d'une insuffisance aortique

N° animaux I.A.	pH	PaO_2 m/m Hg	$PaCO_2$ m/m Hg	HbO_2 %	eau %	P. différentielle m/m Hg
1175	7,37	66	45	91,5	78,8	X
1184	X	X	X	X	78,1	X
1188	7,44	76	35	95,0	79,6	35
1217	7,59	79	22	97,0	74,1	50
1223	7,49	64	33	93,0	80,9	50
1224	7,62	81	23	97,4	77,5	40
1225	X	X	X	X	79,7	60
Moyenne	7,50	73	31	94,7	78,3	47 ⁎
Erreur type	±0,04	± 3,4	± 4,2	±1,1	±0,8	± 4,3

⁎ : $p < 0,01$

TABLEAU V

Concentration des composés riches en énergie et du phosphore inorganique du myocarde de lapins témoins 8 jours après l'opération à blanc

N°animaux témoins	C.P. µ M/g tissu sec	A.T.P. µM/g tissu sec	A.D.P. µM/g tissu sec	A.M.P. µM/g tissu sec	Pi µ Atome/g tissu sec	A.T.P. / ADP + Pi
1174 bis	40,94	25,68	3,78	0,27	14,68	1,3
1167 bis	43,66	20,90	3,00	0,14	18,84	0,9
1224 bis	33,69	19,77	2,77	0,23	16,79	1,0
1227 bis	44,57	21,43	3,24	0,27	16,81	1,0
1229 bis	41,16	18,09	2,55	0,30	12,18	1,2
1233 bis	29,02	15,03	2,29	0,28	14,06	0,9
1234 bis	43,83	22,66	3,10	0,28	19,18	1,0
1235 bis	45,05	22,06	3,13	0,25	20,17	0,9
1239 bis	48,94	25,16	3,70	0,27	21,42	1,0
Moyenne	41,20	21,19	3,06	0,25	17,12	1,0
Erreur type	±2,05	±1,10	±0,14	±0,01	±1,02	±0,04

TABLEAU VI

Concentration des composés riches en énergie et du phosphore inorganique, du myocarde de lapins au 8e jour d'une insuffisance aortique

N° animaux I.A.	C.P. µM/g tissu sec	A.T.P. µM/g tissu sec	A.D.P. µM/g tissu sec	A.M.P. µM/g tissu sec	Pi µAtome/g tissu sec	A.T.P. / ADP +Pi
1175	25,38	17,47	3,43	0,23	9,81	1,3
1184	27,60	20,75	3,28	0,26	15,11	1,1
1188	21,74	20,65	4,19	0,63	18,70	0,9
1217	21,67	17,89	2,76	0,28	20,51	0,7
1223	26,13	19,97	3,72	0,38	23,24	0,7
1224	41,81	23,40	3,74	0,22	15,20	1,2
1225	43,67	23,58	3,83	0,55	14,39	1,2
Moyenne	29,74 *	20,53	3,56	0,36	16,70	1,0
Erreur type	±3,46	±0,90	±0,14	±0,06	±1,68	±0,09

* : $p < 0,01$

Tableau 7 : Concentration des intermédiaires de la glycolyse du myocarde de lapins témoins 8 jours après l'opération à blanc.

N° animaux témoins	Glycogène µM/gsec	G6P µM/g sec	F6P µM/g sec	FDP µM/g sec	DHAP µM/g sec	αG1P µM/g sec	Py. µM/g sec	Lact. µM/g sec	FDP / F6P	α G1P / DHAP	Lact / Py
1174 bis	15,19	0,66	0,15	0,26	0,11	0,26	0,59	8,56	1,7	2,3	14,5
1167 bis	9,38	0,90	0,18	0,20	0,05	0,12	0,59	11,52	1,1	2,4	19,5
1224 bis	59,55	0,68	0,15	0,19	0,09	0,11	0,27	6,86	1,2	1,2	25,4
1227 bis	173,2	0,54	0,09	0,17	0,07	0,27	0,20	3,09	1,8	3,8	15,4
1229 bis	48,87	0,56	0,11	0,23	0,04	0,43	0,24	10,89	2,0	10,7	45,3
1233 bis	70,33	0,36	0,07	0,17	0,05	X	0,16	3,07	2,4	X	10,9
1234 bis	20,02	0,40	0,10	0,09	0,06	0,57	0,29	6,89	0,9	9,5	23,7
1235 bis	55,49	0,86	0,17	0,21	0,09	0,46	0,42	12,07	1,2	5,1	28,7
1239 bis	36,37	0,91	0,18	0,23	0,11	0,15	0,31	6,16	1,2	1,3	19,8
Moyenne	54,26	0,65	0,13	0,19	0,07	0,29	0,34	7,67	1,5	4,5	22,5
Erreur type	± 16,45	± 0,06	± 0,01	± 0,01	±0,008	± 0,06	± 0,05	± 1,12	± 0,16	± 1,3	± 3,4

TABLEAU 8 : Concentration des intermédiaires de la glycolyse du myocarde de lapins au 8ème jour d'une insuffisance aortique.

N°animaux I.A.	Glycogène µM/g sec	G6P µM/g sec	F6P µM/g sec	FDP µM/g sec	DHAP µM/g sec	αG1P µM/g sec	Py. µM/g sec	Lact. µM/g sec	FDP / F6P	αG1P / DHAP	Lact / Py
1175	58,67	0,67	0,18	0,18	0,10	0,06	0,23	15,55	1,0	0,6	67,6
1184	X	0,80	0,17	0,30	0,16	0,24	0,49	17,18	1,7	1,5	35,0
1188	26,43	0,69	0,15	0,42	0,13	0,19	0,32	5,50	2,8	1,4	17,1
1217	104,7	0,32	0,08	0,36	0,13	0,72	0,30	7,43	4,5	5,5	24,7
1223	X	0,59	0,13	0,29	0,15	0,40	0,45	8,27	2,2	2,6	18,3
1224	26,29	0,41	0,18	0,15	0,12	0,17	0,37	7,98	0,8	1,4	21,5
1225	42,45	0,88	0,17	0,11	0,11	0,32	0,44	11,20	0,6	2,9	25,4
Moyenne	51,70	0,62	0,15	0,25	0,12*	0,30	0,37	10,44	1,9	2,2	29,9
Erreur type	± 14,53	± 0,07	± 0,01	± 0,04	±0,007	± 0,08	± 0,03	± 1,66	± 0,52	± 0,61	± 6,6

* : $p < 0,001$

BIBLIOGRAPHIE

-:-

1. ADAM, H.- Adenosine 5' diphosphate and adenosine 5' monophosphate. pp.573, in "Methods of Enzymatic Analysis". BERGMEYER H.Y. Academic Press, New York, 1965.

2. ANTONIS, A.- Semiautomated method for the colorimetric determination of plasma free fatty acids. J. of Lipid Res., 6, 307, 1965.

3. BALLARD, F.B., DANFORTH, W.H., NAEGLE, S. and BING, R.J. Myocardial metabolism of fatty acids. J. Clin. Invest., 39, 717, 1960.

4. BING, R.J., SIEGEL, A., UNGAR, I. and GILBERT, M. - Metabolism of the human heart. II. Metabolism of fats, proteins and ketones. Amer. J.Med. 16, 504, 1954.

5. BISHOP, S.P. and COLE, C.R. - Ultrastructure changes in the canine myocardium with right ventricular hypertrophy and congestive heart failure. Labor. Invest., 20, 219, 1969.

6. BODEL, P.T., RUBENSTEIN, D., Mc GARRY, E.E. and BECK, J.C. Utilization of free fatty acids by the diaphragm in vitro. Amer. J.Physiol., 203, 311, 1962.

7. BOERTH, R.C., COVELL, J.W., SEAGREN, S.C., POOL, P.E. High energy phosphate concentrations in dog myocardium during stress. Amer. J.Physiol. 216, 1103, 1969.

8. BORREDON, P. - Phosphorylcréatine et ATP dans le coeur in situ de Cobaye. Thèse présentée à la Faculté des Sciences de Nancy, 1970.

9.a BUCHER, T., CZOK, R., LAMPRECHT, W. and LATZKO E. - Pyruvate. pp.252, in "Methods of Enzymatic Analysis", BERGMEYER, H.U., Academic Press, New York, 1965.

9.b BUCHER, T. and HOHORST, H.J. - Dihydroxyacetone phosphate, fructose-1,6-diphosphate and D glycéraldéhyde 3 phosphate. Determination with glycerol I phosphate deshydrogenase, aldolase and triosephosphate isomerase. pp.246, in "Methods of Enzymatic Analysis", BERGMEYER, H.U. Academic Press, New York, 1965.

10. CAIN, D.F. and DAVIES, R.E. - Breakdown of adenosine triphosphate during a single contraction of working muscle. Biochem. Biophys. Res. Commun., 8, 361, 1962.

11. CARLSON, L.A. - Lipid metabolism and muscular work. Federation Proc., 26, 1755, 1967.

12 a. CRASS III, M.F., Mc CASKILL, E.S., SHIPP, J.C. and MURTHY, V.K. - Metabolism of endogenous lipids in cardiac muscle : effect of pressure development. Amer. J. Physiol., 220, 428, 1971.

12 b. CRASS III, M.F., Mc CASKILL, E.S. and SHIPP, J.C. - Glucose free fatty acid interactions in the working heart. J. Applied Physiol , 29, 87, 1970.

12 c. CRASS III, M.F., Mc CASKILL, E.S. and SHIPP, J.C. - Effect of pressure development on glucose and palmitate metabolism in perfused heart. Amer. J.Physiol., 216, 1569, 1969.

13. DOLE, V.P. - A relation between non esterified fatty acids plasma and metabolism of glucose. J. Clin. Invest., 35, 150, 1956.

14. EATON, P. and STEINBERG, D. - Erfects of medium fatty acid concentration, epinephrine and glucose on palmitate I-C14 oxidation and incorporation into neutral lipids by skeletal muscle in vitro. J. Lipid Res., 2, 376, 1961.

15. EVANS, J.R. - Importance of fatty acid in myocardial metabolism. Circulation, 15 (suppl.II) : 96, 1964.

16. FAWAZ, E.N., FAWAZ, G. and Von DAHL, K. - Enzymatic estimation of phosphocreatine. Proc. Soc. exptl. Biol. Med., 109, 38, 1962.

17. FEINSTEIN, M.B. - Effects of experimental congestive heart failure, ouabaïn and asphyxia on the high energy phosphate content and creatine content of the guinea pig heart. Circulation Res., 10, 333, 1962.

18. FISKE, C.H. and SUBBAROW, Y. - Phosphate determination. In "Methods in Enzymology", vol. XIV, Lipids, p.485. Ed.LOWENSTEIN, J.M., Academic Press, New York, 1969.

19. FIZEL, A. and FIZELOVA, A.- Cardiac hypertrophy and heart failure. Dynamics of changes in high energy phsophates compounds, glycogen, and lactic acids. J.Mol. Cell. Cardiol., 2, 187, 1971.

20. FIZELOVA, A. and FIZEL, A. - Cardiac hypertrophy and heart failure. Dynamics of changes in proteins and nucleic acids. J. Mol. Cell. Cardiol., I, 389, 1970.

21. FOLCH, J., LEES, M. and SLONESTANLEY, G.H. - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 226, 497, 1957.

22. FRITZ, I.B. and KAPLAN, E. - Effects of glucose on palmitate esterification by isolated rat diaphragms. Amer. J. Physiol., 200, 1947, 1961.

23 a. FURCHGOTT, R.F. and De GUBAREFF, T. - The high energy phosphate content of cardiac muscle under various experimental conditions with alter contractile strength. J.Pharmacol. Exptl. Therap., 124, 203, 1958.

23 b. FURCHGOTT, R.F. and De GUBAREFF, T. - The determination of inorganic phosphate and creatine phosphate in tissue extracts. J. Biol. Chem. 233, 337, 1956.

24. GREINER, T. - Relationship of force of contraction to high energy phosphate in heart muscle. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 105, 178, 1952.

25. GOOD, C., KRAMER, H. and SOMOGYI, M. - The determination of glycogen. J. Biol. Chem., 100, 485, 1933.

26 a. HATT, P.Y., LEDOUX, C. et BONVALET; J.P. - Lyse et synthèse des protéines myocardiques au cours de l'insuffisance cardiaque expérimentale. Arch. Mal. Coeur, 58, 1703, 1965.

26 b. HATT, P.Y., BERJAL, G., MORAVEC, J. and SWYNGHEDAUW, B. Heart failure : and electron microscopic study of the left ventricular papillary muscle in aortic insufficiency in the rabbit. J. Mol. Cell. Cardiol., I, 235, 1970.

27 a. HOHORST, H.J. - D-glucose-6-phosphate and D-fructose-6-phosphate. Determination with glucose-6-phosphate dehydrogenase and phospho-glucose isomerase. In "Methods of Enzymatic Analysis", pp. 134, BERGMEYER, H.U., Academic Press, New York, 1965.

27 b. HOHORST,HJ.- L (-) glycerol-I-phosphate. Determination with glycerol-I-phosphate dehydrogenase. In "Methods of Enzymatic Analysis", pp.215, BERGMEYER, H.J., Acad. Press., New York, 1965.

27 c. HOHORST, HJ.- L (+) lactate. Determination with lactic dehydrogenase and D.P.N.
In "Methods of Enzymatic Analysis", pp.266, MERGMEYER H.U., Acad. Press, New York, 1965.

28. JOBSIS, F.F. - Basic processes in cellular respiration. In "Handbook of Physiology, Respiration", vol.I, pp.63, Ed.DOW, P., FENN, F. and RAHN, H., Washington, D.C., 1964. American Physiological Society.

29. KLARWEIN, M., KAKO, K., CHRYSOHOU, A. and BING, R.J. Effects of atrial and ventircular tachycardia on carbohydrate metabolism of the heart.
Circulation Res., 9, 819, 1961.

30. KRASNOW, N., NEILL, W.A., MESSER, J.V. and GORLIN, R.- Myocardial lactate and pyruvate metabolism.
J. Clin. Invest., 41, 2075, 1962.

31 a. KRAUPP, O., ADLER-KASTNER, L., NIESSNER, H. and PLANK, B.- The effects of starvation and of acute and chronic alloxan diabetes on myocardial substrate levels and on liver glycogen in the rat in vivo.
European J. Biochem., 2, 197, 1967.

31 b. KRAUPP, O., NIESSNER, H., PLOSZCZANSKI, B., ADLER-KASTNER L. SPRINGER, A. and CHIRIKDJIAN, J.J. - Acomparison of the effects of hexobendine with those of anoxia on the concentration of myocardial metabolites in vivo.
European J. Pharmacol., I, 140, 1967.

32. LAMPRECHT, W. and HOCKERTS, T. - Die energieverhaltnisse des suffizienten und insuffizienten Herzens in struktur und stoffwechsel des Herzmuskels.
I. Symposium Med. Univ. Klinik Münster, Stuttgart, 1958.

33. LEE, K.S., YU, D.H. and BURNSTEIN, R. - Effect of ouabafn and the oxygen consumption, the high energy phosphates and the contractility of the cat papillary muscle.
J. Pharmacol. Exptl. Therap., 129, 115, 1960.

34. LEMLEY, J.M. and MENEELY, G.R. - Effects of anoxia on metabolism of myocardial tissue.
Amer. J. Physiol., 169, 66, 1952.

35a. MEERSON, F.Z. - The myocardium in hyperfunction hypertrophy and heart failure.
Circulation Res., 25, n°1, suppl. II , 1969.

35b. MEERSON, F.Z. - Compensatory hyperfunction of the heart and cardiac insufficiency.
Circulation Res., 10, 250, 1962.

36. MORAVEC, J., CORSIN, A., GUILLEMOT, H. and HATT, P.Y. - Absence of the relationship between ultrastructure and metabolic state of heart mitochondria in situ.
J. Mol. Cell. Cardiol. 2, 161, 1971.

37a. MORGAN, H.E., HENDERSON, M.J., REGEN, D.M. and PARK, C.R. Regulation of glucose uptake in muscle. I. The effects of insulin and anoxia on glucose transport and phosphorylation in the isolated perfused heart of normal rats.
J. Biol. Chem., 236, 253, 1961.

37b. MORGAN, H.E., NEELY, J.R., WOOD, R.E., LIEBECQ, C., LIEBERMEISTER, H. and PARK, C.R. - Factors affecting glucose transport in heart muscle and erythrocytes.
Fed. Proc., 24, 1040, 1965.

38a. NEELY, J.R., LIEBERMEISTER, H., BATTERSBY, E.J. and MORGAN H.E Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart.
Amer. J.Physiol. 212 , 804, 1967.

38b. NEELY, J.R., LIEBERMEISTER, H. and MORGAN, H.E. - Effects of pressure development on membrane transport of glucose in isolated rat heart.
Amer. J.Physiol., 212, 815, 1967.

39a. OLSON, R.E. - Physiology of cardiac muscle. pp. 194-235, in "Handbook of Physiology, Circulation", vol.I, HAMILTON; W.F. DOW, P. ed., Washington, 1962.

39b. OLSON, R.E. - Metabolic intervention in the treatment of infarcting myocardium. Circulation, 40, 217, 1969.

39c. OLSON, R.E. - Utilization of exogenous and endogenous lipids by the isolated perfused rat heart.
Int. Symp. on the Coronary Circulation and Energetics of the Myocardium., Milan, 1966, pp.162-185, Karger, Basel, New York, 1967.

40a. OPIE, L.H., SHIPP, J.C., EVANS, J.R. and LEBOEUF, B. Metabolism of glucose U C 14 in perfused rat heart.
Amer. J. Physiol., 203, 839, 1962.

40b. OPIE, L.H., MANSFORD, K.R.L. and OWEN, P. - Effects of increased heart work on glycolysis and adenine nucleotides in the perfused heart of normal and diabetic rats.
Biochem. J., 124, 475, 1971.

41a. POOL, P.E., COVEL, J.W., CHIDSEY, C.A. and BRAUNWALD, E. Myocardial high energy phosphate stores in acutely induced hypoxic heart failure.
Circulation Res., 19, 221, 1966.

41b. POOL, P.E., SPANN, J.F., BUCCINO, R.A., SONNENBLICK, E.H., BRAUNWALD, E. - Myocardial high energy phosphate stores in cardiac hypertrophy and heart failure.
Circulation Res., 21, 365, 1967.

42. PROCITA, L., SCHWARTZ, A. and LEE, K.S. - Oxidative phosphorylation in the failing dog heart lung preparation.
Circulation Res., 16, 391, 1965.

43. RAKUSAN, K., DUMESNIL de ROCHEMONT, W., TSCHOPP, H. and BING, RJ. - Capacity of the vascular bed during normal growth in cardiomegaly and in cardiac atrophy.
Circulation Res., 21, 203, 1967.

44. REGAN, D.M., DAVIS, W.W., MORGAN, H.E. and PARK, C.R. The regulation of the hexokinase and phosphofructokinase activity in heart muscle.
J. Biol. Chem., 239, 43, 1964.

45. RINETTI, M., VISIOLO, O., COLOMBI, L. and BARBARESI, F.- Myocardial lipids after intense muscular work.
Cardiologia, 45, 269, 1964.

46. ROLETT, E.L., YURCHACK, P.M., HOOD, W.B. Jr., GORLIN, R. Pressure volume correlates of L.V. owygen consumption in the hypervolemic dog.
Circulation Res., 17, 499, 1965.

47. SCHREIBER, S.S., ORATZ, M. and ROTHSCHILD, M.A. - Effect of acute overload on protein synthesis in cardiac muscle microsomes. Amer. J.Physiol. 213, 1552, 1967.

48. SCHWARTZ, A. and LEE, K.S. - Study of heart mitochondria and glycolytic metabolism in experimentaly induced cardiac failure. Circulation Res., 10, 321, 1962.

49. SCHWARTZ, D. - Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes.
Ed. Flammarion, Paris, 1963.

50a. SHIPP, J.C., THOMAS, J. and CREVASSE, L. - Oxidation of carbon C 14 labelled lipids by isolated perfused rat heart.
Sciences, 143, 371, 1964.

50b. SHIPP, J.C., OPIE, L.H., and CHALLONER, D. - Fatty acid and glucose metabolism in the perfused rat heart.
Nature, 189, 1018, 1961.

51. SLEIN, M.W. - D-glucose. Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. pp.117, in "Methods in Enzymatic analysis", BERGMEYER, H.U. Acad. Press, New York, 1965.

52. SWYNGHEDAUW, B. et CORSIN, A. - Les effets d'une perfusion hyper ou hypocalcique sur la glycolyse du coeur isolé de lapin. Arch. Int. Physiol. Biochim., 77, 181, 1969.

53. SZEKERES, L. and SCHEIN, M. - Cell metabolism of the overloaded mammalian heart in situ.
Cardiologia 34, 18, 1959.

54. WILLIAMSON, J.R. - Glycolytic control mechanism. II; Kinetics of intermediate changes during the aerobic anoxic transition in perfused rat heart.
J. Biol. Chem. 241, 5026, 1966.

55a. WOLLENBERGER, A. - The energy metabolism of the failing heart and the metabolic action of cardiac glycosides.
Pharm. Rev., I, 311, 1949.

55b. WOLLENBERGER, A., RISTAU, O., and SCHOFFA, G. - Eine einfach Technik der extrem schnellen Abkühlung grösserer Gewebestücke.
Pflügers Arch. Ges. Physiol., 270, 399, 1960.

55c. WOLLENBERGER, A., and SCHULZE, W. - Mitochondrial alterations in the myocardium of dogs with aortic stenosis.
J. Biophys. Biochem., Cytol., 10, 285, 1961.

-:-

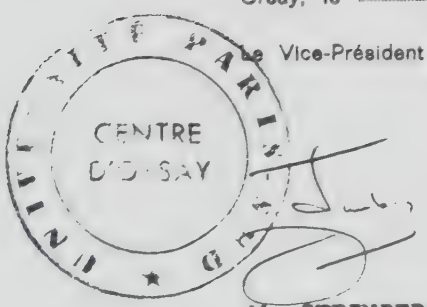
DEUXIÈME THÈSE

Propositions données

Vu et approuvé :

Orsay, le 6 Mars 1973

Le Vice-Président du Centre d'Orsay :



M. STEINBERG.